

Označevanje molekul v celicah

Histokemijske metode nam omogočajo predvsem kvalitativno ugotavljanje posameznih kemijskih sestavin v celicah in zunajceličnem prostoru tkiva ter določanje njihovega mesta v histološkem preparatu. Osnova vseh histokemijskih reakcij je specifična vezava barvila na določeno kemijsko substanco v preparatu. Ta substanca je lahko fiziološka sestavina celice (kisli proteoglikani). Rezultat histokemijske reakcije je reakcijski produkt, ki mora imeti naslednje lastnosti: biti mora netopen, stabilen in obarvan (elektronska mikroskopija; mora vsebovati atome težkih kovin)

-dokazovanje DNA (opiši princip)

-Feulgenova reakcija; ta histokemijska reakcija poteka v dveh stopnjah: V rezinah fiksiranega tkiva najprej s selektivno kislinsko hidrolizo (1M HCl pri 60°C se iz deoksiriboze v DNA odcepijo purinske baze. Na teh mestih se sprostijo aldehydne skupine. Nato pa prisotnost teh aldehydskih skupin ugotavljamo z delovanjem schiffovega reagenta na tkivno rezino.

Dokazovanje ogljikovih hidratov(nevtralni proteoglikani in enostavni polisaharidi PAS reakcija:

Pri PAS (periodic Asic Schiff) reakciji najprej poteče oksidativna cepitev vezi med ogljikovima atomoma v molekuli sladkorja ali amino-sladkorja s perjodovo kislino. Pri tem nastane aldehyd, ki da s schiffovim reagentom pozitivno (rdečevijolično) barvno reakcijo. S PAS reakcijo se obarvajo glikogen, škrob, celuloza, nevtralni proteoglikani, nekateri glikoproteini in glikolipidi.

Kisli proteoglikani: alciansko modrilo

Alciansko modrilo je kationska barvila ki se v tkivu dobro veže na kisle proteoglikane, to je molekule, ki imajo številne proste karboksilne in sulfatne skupine (npr. hialuronska kislina, hondroitinsulfat, keratansulfat) Na tkivni rezini se ta mesta obarvajo intezivno modrozeleno.

Dokazovanje Lipidov:

Barvila Sudan III, ki so topna v lipidih difundirajo v notranjost lipidnih kapljic, se tam akumulirajo in jih obarvajo.

Osmijev tetraoksid:

Lipidi, ki vsebujejo predvsem nenasičene maščobne kisline, reducirajo OsO₄, v črno obarvane nižje osmijeve okside. Zato so lipidne kaplje v tkivnih rezinah obarvane črno.

Encimska histokemija

Encimska histokemija vključuje metode, ki omogočajo ugotavljanje prisotnosti določenega encima v celici na osnovi njegove aktivnosti. Košček tkiva ali tkivne rezine inkubiramo v mediju, ki vsebuje substrat za iskani encim. Substrat difundira v celice, kjer se zaradi delovanja encima spremeni in nastane primarni reakcijski produkt. Pri reakciji primarnega reakcijskega produkta z reagentom nastane končni reakcijski produkt, ki mora biti obarvan (elektronsko gost), netopen v vodi in kemijsko stabilen. Obarvan, končni reakcijski produkt, nam na nivoju svetlobne ali elektronske mikroskopije pokaže mesto delovanja encima v celici.

reagent

Substrat + encim → primarni reakcijski produkt → končni reakcijski produkt

-Razlika med pripravo preparata s trajnimi histološkimi metodami in encimsko histokemijskimi metodami

V encimski histokemiji tkivo fiksiramo z nizkimi koncentracijami glutaraldehida ali paraformaldehida. Kljub nekoliko zmanjšani encimski aktivnosti zaradi fiksacije ostanejo strukture v celicah ohranjene do take mere, da ne prihaja do spremembe lokacije encimov. S fiksacijo se poveča tudi permeabilnost celičnih membran, kar olajša difuzijo substrata in reagenta v celico.

Histokemijsko ugotavljamo v celicah predvsem prisotnost kislih hidrolaz(fosfataza, esteraza) in oksidoreduktaze(oskidaze, peroksidaze, dehidrogenaze)

Markerski encim

Imenujemo encim, ki je značilen za določen organel. S histokemičnim dokazovanjem tega encima hkrati ugotovimo prisotnost in mesto določenega organela v celici.

Dokazovanje kisle fosfataze (KF)

Kisla fosfataza je markerski encim za lizosome. Ta encim je aktiven v kislem pH in katalizira hidrolitični razcep organskih fosfatnih estrov. Za dokaz encimske aktivnosti na nivoju svetlobnega mikroskopa tkivo inkubiramo v mediju, ki vsebuje substrat α -naftilfosfat in reagent diazonijevo sol.

Dokazovanje katalaza

Katalaza je markerski encim za peroksisome. V peroksisomih nastaja pri oksidaciji različnih organskih molekul vodikov peroksid(H_2O_2), ki ga katalaza razgradi na kisik in vodo ter s tem prepreči poškodbe celic, ki bi nastale zaradi strupenega delovanja vodikovega peroksida

Avtohistoradiografija

Posamezne kemijske sestavine celice lahko specifično označimo z radiokativnimi izotopi, prisotnost teh izotopov pa ugotavljamo z metodo avtohistoradiografije.

Je metoda, ki omogoča lokacijo označene substance v preparatu in analizo dinamike njenega metabolizma. Pri avtohistoradiografiji uporabimo molekule ki so označene z radioaktivnimi izotopi. Te molekule se v živo celico vgradijo na specifično mesto in tam ostanejo tudi v pripravljenem histološkem preparatu, ki ga prevlečemo z fotografsko emulzijo, v kateri so kristalčki srebrovega bromida. Izotopi, ki oddajajo β delce so najbolj pomembni. Največ uporabljamo snovi, ki so označene z 3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S ali ^{135}I . Označene molekule injiciramo v poskusno žival ali pa tako snov dodamo mediju, v katerem raste kultura celic.

Ko celica označeno snov vključijo v svoj metabolizem, tkivo fiksiramo in pripravimo histološke rezine.

V temi objektive s preparati prevlečemo s fotografsko emulzijo in preparate eksponiramo v popolni temi pri $4^\circ C$ približno en mesec. V tem času, β delci, ki izvirajo iz označene snovi, vgrajene v celico, zadevajo ob kristale srebrovega bromida, ter reducirajo Ag^+ v Ag^0 , nastane slika, katero razvijemo z prilagojenim fotografskim postopkom, v katerem se zrna srebra povečajo, da postanejo vidna. Slika nam pokaže kje, kam se je označena snov v tkivu oziroma v celici vgradila. Preparat lahko potem se dodatno obarvamo.

Za označevanje DNA, uporabljamo z ^3H označen timidin, za označevanje RNA s ^3H , označen uridin, za študij metabolizma ogljikovih hidratov pa s ^3H označene monosaharide (npr. ^3H -galaktoza)

Imunooznačevanje

V imuncitokemiji s pomočjo protiteles ugotavljamo prisotnost celičnih sestavin, predvsem proteinov. Molekule, na katere se protitelesa specifično vežejo, imenujemo antigeni. Ta metoda je zelo specifična, saj za vsak antigen lahko izdelamo specifično protitelo. Pri tej metodi tkivo fiksiramo z zmrzovanjem (fizikalna fiksacija), ali z rahlo kemijsko fiksacijo, da se ne spremenijo antigenske lastnosti molekul v tkivu. Zaledenele rezine inkubiramo s protitelesi, specifičnimi za določen tkivni antigen. Takšna protitelesa imenujemo primarna protitelesa.

Direktna metoda: na primarno telo je vezan izbran označevalec, zaradi česar je kompleks antigen-protitelo viden pod mikroskopom.

Indirektna metoda: v prvi stopnji uporabimo neoznačeno primarno protitelo. V drugi stopnji pa uporabimo označeno sekundarno protitelo, ki se specifično veže na primarno in tako posredno pokaže mesto iskanega tkivnega antigena. Na protitelo je lahko vezna tudi encim, ki ga lokaliziramo s pomočjo encimske histokemije ter preparat opazujemo z svetlobnim mikroskopom. V elektronski mikroskopiji pa uporabljamo kot označevalec protitelesa koloidno zlato ali molekulo, ki vsebuje atome težkih kovin (feritin)

In situ hibridizacija (ISH)

Vodikove vezi, ki povezujejo polinukleotidne verige v molekuli DNK, se pri visoki temperaturi ali pri visokem pH prekinejo in dvojna vijačnica razpade na dve verigi. Ta denaturirana molekula DNA se pri nižji temperaturi lahko znova poveže v dvojno vijačnico, če v raztopini obstajajo komplementarne polinukleotidne verige. Medsebojno povezovanje polinukleotidnih verig, ki ne izvirajo nujno iz iste dvojne vijačnice, se imenuje hibridizacija. Hibridizacija lahko poteka med dvema enojnima verigama molekule DNK, med dvema molekulami RNA, ali pa med eno verigo DNA in eno verigo molekule RNA.

Celice v katerih smo DNA denaturirali, inkubiramo v mediju, ki vsebuje enojne verige specifičnih in znanih nukleotidnih zaporedij, ki so označene (sonda DNK). Kot označevalec lahko uporabimo na primer radioaktivni izotop, encim ali protein, ki ga določimo imunohistokemijsko. Hibridizacijo sonde DNK s celično DNK potem ugotovimo z metodo avtohistoradiografije ali encimske histokemije. Hibridizacija sonde DNK s celično DNK pokaže na prisotnost specifičnih nukleotidnih zaporedij, ki so komplementarne sondi DNA. Prav tako je **In situ hibridizacija uporabna za ugotavljanje prisotnosti določenih zaporedij RNK in s tem za ugotavljanje aktivnosti genov, ki kodirajo te molekule RNK (ugotavljanje lahko npr. prisotnost latentnega virusa, ki še ne sintetizira lastnih beljakovin)**. V citogenetiki se za označevanje določenega kromosoma, gena na nekem kromosomu ali mutiranega gena uporablja In situ hibridizacija s fluorescenčno označenimi sondami DNK (Fish; fluorescenčna in situ hibridizacija)

-kako bi ugotovil koncentracijo celic v suspenziji

Koncentracijo celic v **suspenziji** ugotavljamo s **štetjem celic na hemocitometru**.

Gojenje celic in vitro

Celice za svoje preživetje, rast in razmnoževanje potrebujejo čim bolj podobne razmere, kot so jih imele v telesu. Predvsem potrebujejo hranilno gojišče(hranilni medij), ki vsebuje vse potrebne hranilne snovi, npr; aminokislino, glukozo, vitamine, soli, razen tega pa se rastne faktorje, za preprečitev okužbe pa antibiotike in fungicide. Celice lahko preživijo in se razmnožujejo le v mediju, ki ima ustrezen pH (7.4) in temperaturo (37 °C za sesalske celice). Posoda, v kateri kulturo gojimo, mora biti v sterilnem okolju in v ustrezni atmosferi(zrak v katerem je 5% CO₂). Za rutinsko gojenje celic dodajamo mediju fetalni serum, ki vsebuje primerno mešanico rastnih hormonov. Če želimo ugotoviti vpliv specifične substance na rast in diferenciacijo celic, pa uporabljamo kemijsko natančno definirana gojišča.

Poznamo dva tipa kulturnih tkiv. Kulturo eksplantata in celično kulturo.

Kultura eksplantata: Majhen košček tkiva, odvzet v sterilnih razmerah, prenesemo v ustrezno hranilno gojišče. Košček tkiva mora biti majhen, saj celice v njem dobivajo potrebne snovi samo z difuzijo. Lahko preživi tudi več tednov(ob redni menjavi)

Če hočemo tkivno kulturo ohranjati dlje časa, moramo pripraviti celično kulturo.

Najlažje jo pripravimo iz embrionalnih, še nediferenciranih celic. **Kulture ki jih pripravimo neposredno iz tkiva imenujemo primarne kulture. Iz primarne kulture lahko ponovno s tripisinizacijo pripravimo suspenzijo celic, ki jo prenesemo v gojišče.**

Značilnost za primarno kulturo; omejeno število delitev. Nekatere, katere dolgo časa ohranjamo postanejo potencialno nesmrtno, imenujemo jih trajne celične linije.(HeLa – karcinomske epitelne celice človeka). Te celice se morfološko in fiziološko razlikujejo od celic, iz katerih izvirajo. Celice se lahko delijo, le če se pritrdijo na trdno podlago. Dno plastične posode včasih še prevlečem s plastjo sestavin zunajceličnega matriksa, da olajšamo pritrditev celic. Normalne celice v kulturi rastejo in se delijo toliko časa, dokler celotne površine ne prerastejo v eni sklenjeni plasti.(konfluentna kultura)

Med sosednjimi celicami se vzpostavljajo medcelični stiki. Gibanje in delitve celic se zato ustavijo (kontaktna inhibicija)

Rakasto spremenjene celice nimajo kontaktne inhibicije in se v kulturi obnašajo drugače ; so bolj gibljive in se slabše pritrdijo na podlago, lahko rastejo druga čez drugo v več plasteh, in ker je njihova rast manj odvisna od prisotnosti rastnih faktorjev, je njihova gostota v kulturi lahko večja. Za ugotavljanje deleža preživetja celic(surviving fraction) uporabljamo metodo barvanja s tripanskim modrilom, ki obarva samo celice s poškodovano celično membrano. Za ugotavljanje stopnje preživetja je najnatančnejša metoda ugotavljanja števila makroskopsko vidnih kolonij. Koncentracija na začetku mora biti nizka, da lahko predpostavimo, da je vsaka kolonija zrasla iz ene celice.

Uporaba tkivnih kultur: za proučevanje živih celic, ki so v kulturi lažje dostopna za opazovanje in eksperimentiranje, v veliki meri ohranijo lastnosti tkiva, iz katerega izvirajo (fibroblasti izločajo kolagen, embrionalne skeletne mišične celice se združujejo v več jedrne mišične celice, ki s spontano krčijo, epiteljske celice se povezujejo podobno kot v intaktnem epiteliju, žlezne celice sintetizirajo in izločajo specifičen žlezni produkt)

Prednost dela s celicami v kulturi v primerjavi z delom s celicami v organizmu, je predvsem v tem, da lažje zagotovimo enake in definirane eksperimentalne razmere za vse celice in da eksperimentalne razmere lažje spreminjamo.

-v katerih lastnostih se rakave celice razlikujejo od normalnih celic v kulturi

Rakaste celice razvijejo drugačno strukturo DNK, vsebujejo abnormalno število kromosomov. Se zelo hitro delijo, brez nekega reda, sčasoma se razvije masivno tkivo, katerega poimenujemo tumor. Imajo defekten Krebsov cikel, in ne dobijo, ali zelo malo dobijo energije. Večinoma dobijo energijo v odsotnosti kisika. So prekomerno aktivne, potrebujejo več hrane (kemikalije). Encimi in hormoni so prekomerno aktivni ali premalo aktivni. Nimajo zgrajenega krvnega sistema.

Rakasto spremenjene celice nimajo kontaktne inhibicije in se v kulturi obnašajo drugače ; so bolj gibljive in se slabše pritrjajo na podlago, lahko rastejo druga čez drugo v več plasteh, in ker je njihova rast manj odvisna od prisotnosti rastnih faktorjev, je njihova gostota v kulturi lahko večja.

-naštet sestavne dele mikroskopov, ki se razlikujejo od običajnega svetlobnega mikroskopa:

~fazno-kontrastni m.

opazujemo prozorne strukture, ki sem me seboj razlikujejo le v optični gostoti, oziroma lomnem količniku. Omogoča opazovanje številnih struktur v živi celici, ne da bi bilo celico treba obarvati (npr: gibanje kromosomov med mitozo). Za povečanje kontrastnosti slike fazno-kontrastni **mikroskop razlike v fazi svetlobnega valovanja**, ki jih naše oko ne zaznava, **spremeni v amplitudi svetlobnega valovanja**, ki jih zaznavamo kot različno svetlost delov opazovanega objekta. Princip delovanja FZM temelji na lastnosti svetlobe da se skozi prehodu skozi optično gostejše dele preparata upočasni, hkrati pa se tudi ukloni, torej spremeni smer. Žarki, ki prodrejo skozi preparat se zato ločijo v dva tipa: **Na direktne in uklonske**. Direktni žarki ki so prešli skozi vodni medij, ne spremenijo smer. Tisti uklonski žarki ki so prodrli skozi optično gostejši medij, spremenijo smer in zaostanejo za direktnimi za del valovne dolžine. Zaradi upočasnitve uklonskih žarkov, nastane zamik v fazi valovanja med uklonskimi in direktnimi žarki. Temu pravimo **fazni zamik**

Razlike v fazi med uklonskim in direktnim žarkom so v primeru bioloških preparatov razmeroma majhne. Po interferenci se amplituda interferenčnega žarka ne spremeni bistveno. Naše oko teh razlik ne more zaznati. Slika neobarvanih celic je v klasičnem svetlobnem mikroskopu slabo kontrastna.

Je zgrajen tako, da najprej loči uklonske žarke od direktnih, nato poveča razliko med v fazi valovanja med direktnimi in uklonskimi žarki za $\frac{1}{4}$ valovne dolžine. Po interferenci teh žarkov se njuni amplitudi (jakost žarka) odštejeta, nastane slika, v kateri je kontrast med različnimi strukturami povečan.

~ fluorescenčni m.

Lahko opazujemo preparate, v katerih so prisotne molekule ki fluorescirajo; absorbirajo svetlobo krajše valovne dolžine (UV, modro svetlobo) in oddajajo svetlobo daljše valovne dolžine (rumenozeleno rdeče). Svetloba, ki svetlobo vzpodbudi; vzbujevalna svetloba, svetloba, ki fluorescirajočo snov oddaja pa imenujemo fluorescenčna svetloba.

Uporabljamo Hg žarnico, ki oddaja svetlobo krajših valovnih dolžin v UV spektru. Uporablja princip epifluorescence, kar pomeni da preparat osvetljujemo od zgoraj skozi objektiv. Objektiv opravlja nalogo kondenzorja in objektiva. Med žarnico in preparatom je nameščen vzpodbujevalni filter, s katerim iz svetlobe katero oddaja žarnica, ločimo tisti del spektra, ki v preparatu povzroči največjo fluorescenco.

Pred okularjem je nameščen zaporni filter, ki ščiti oči pred poškodbo. Vidno polje je temno. Med obema filtroma je nameščeno zrcalo, ki vzpodbujevalno svetlobo, usmeri v objektiv, za fluorescenčno svetlobo pa je zrcalo prozorno, tako da nemoteno potuje do okularjev.

~ stereoskopski m.

Opazujemo predmet z obema očesoma hkrati skozi dva ločena objektiv in okularja, zato slika, ustreza prostorskemu vtisu normalnega gledanja. Med objektivom in okularjem so vgrajene dodatne prizme, ki sliko spet obrnejo in tako olajšajo delo s tem mikroskopom.

~ polarizijski m.

Preparat osvetlimo s polarizirano svetlobo. Omogoča nam opazovanje dvolomnih (anizotropnih) struktur, v katerih se svetloba širi v vseh smereh z enako hitrostjo in zato lahko nekoliko zasučejo ravnino nihanja polarizirane svetlobe. To so strukture, ki imajo pravilno urejene molekule (škrobno zrno, prečnoprogaste mišično vlakno, kolagen)

Ima med izvorom svetlobe in preparatom vgrajen polarizator (polarizacijski filter), ki polarizira svetlobo, s katero osvetljujemo preparat. Med objektivom in okularjem je vgrajen analizator, drugi polarizacijski filter, ki je nameščen pravokotno na polarizator, da zadrži vso svetlobo, ki jo prepušča polarizator. Vidno polje je temno.

~ presevalni (transmisijski) m.

uporabljamo za preučevanje celične ultrastrukture, ker ima ta mikroskop veliko boljšo ločljivost. ($d = 1-2\text{nm}$), kot svetlobni mikroskop ($d > 200$). Boljša ločljivost je posledica krajše valovne dolžine. Za nastanek slike se uporabljamo valovanje elektronov, ki imajo zaradi velike hitrosti kratko valovno dolžino ($\lambda = 0,005\text{nm}$). Slika nastane zaradi presevanja preparata z elektroni, ki se elastično sipajo na atomih težkih kovin. Te kovine vnesemo v preparat med postopkom priprave preparata.

Vir elektronov je kovinski filament (katoda), ki ob segrevanju z električnim tokom oddaja elektrone. Visoka napetost med katodo in anodo (40-100 kV), pospeši snop elektrone skozi majhno odprtino v anodi. Elektromagnetne leče usmerjajo elektrone. V cevi, po kateri potujejo elektroni, je vakuum.

Kondezor zbere snop elektronov, na preparatu, objektiv poveča sliko predmeta, ki usreza okularju, projektiv, ki ustreza okularju pa sliko ki je dal objektiv se poveča in jo projecira na fluorescenčni zaslon ali fotografski film.

~ vrstični elektronski m.

Omogoča neposredno opazovanje površine preparatov. Snop primarnih elektronov izhaja iz katode, ki jo segreva električni tok. Snop teče od točke do točke, otipava površino preparata, pri čemer iz površine preparata izhajajo sekundarni elektroni, ki jih zbira detektor. Je nameščen v neposredni bližini površine preparata. Sekundarne elektrone oscilator spreminja v fotone, ti pa se na fotopomnoževalki pretvorijo v električni signal. Na monitorju opazujemo sliko površine preparata.

~**invertni m.** Uporabljamo ga pri delu z celičnimi kulturami.

Objektivi so nameščeni pod mizico, zato višina posode ne ovira izostrovanje slike, tudi pri objektivih z celimi lastnimi povečavami in majhnimi delovnimi razdaljami. Preparat je osvetljen od zgoraj. Posebne prizme v spodnjem delu mikroskopa usmerijo svetlobne žarke, ki prihajajo iz preparata skozi objektiv, poševno navzgor v tubus z okularjem, ki je nameščen enako kot pri običajnih svetlobnih mikroskopih.

Tudi pri invertnem mikroskopu je optični del prirejen tako, da omogoča faznokontrastni ali fluoroscenčno mikroskopijo.

~**Konfokalni m.**

Pri vse do sedaj omenjenih mikroskopih smo lahko uporabljali le preparata tanjše od $10\mu\text{m}$, da je svetloba lahko preparat presvetlila. Da nam informacijo še o tretji dimenziji celice ali tkiva. Osnova je fluorescenčni mikroskop. Ne osvetljujemo celotni preparat hkrati, pač pa ga z laserskim žarkom po točkah pregledujemo v določeni optični ravnini. Vzpodbujeno fluorescentno svetlobo iz posameznih točk sprejme detektor, ki informacijo s pomočjo računalnika pretvori v sliko.

Skeniranje preparata samo v izbrani ravnini z nastavljivo globino, omogočata dve zaslonki z zelo majhnima odprtinama. Nameščeni sta v gorišču za lečo objektiva(konfokalno). Prva zaslonka je nameščena za izvorom svetlobe, druga pa pred detektorjem

Prva zaslonka omogoča osvetljevanje preparata le v izbrani točki v nekem momentu, druga pa prepreči vstopanje fluorescentne svetlobe, ki izhaja iz območij preparata zunaj gorišča. Torej nam omogoča pregledovanje več sto μm debelih preparatov. Iz optičnih rezin preparata lahko sestavimo tridimenzionalno sliko tkiva.

-**kateri mikroskop bi uporabil za preučevanje celic v gojišču**

Invertni mikroskop

Invertni mikroskop se uporablja pri delu s celičnimi kulturami, ker omogoča direktno opazovanje celic v posodi, v kateri rastejo.

~ **kakšne oblike so sledeči tipi celic:**

~živčna celice, pigmentne in kostne celice so asimetrična oblike z številnimi izrastki

~cel. hrbtne strune, jetrne celice in celice rastlinskih tkiv so poligonalne ali izodiametrične oblike

~epitelna cel. ustne sluznice (epitelij: visokoprizmatske, kubične ali ploščate)

~eritrocit (sferične oblike)

-obkroži pravilno trditev:

~imerzijski objektiv ima daljšo goriščno razdaljo

~imerzijski objektiv ima večjo numerično aperturo

~če mikroskopu povečamo NA, se ločljivost mikroskopa poveča

~na kakovost fiksacije vpliva pH fiksativa

~na kakovost fiksacije NE vpliva osmolarnost fiksativa

-napiši formulo za mikrometrsko vrednost in izračunaj za podane vrednosti (okularno merilo=15enot, objektivno merilo=6enot)

$$mv = \frac{\text{številko presledkov objektnega mikrometra} * 10\mu\text{m}}{\text{številko presledkov okularnega mikrometra}}$$

~Razložite kaj se zgodi z numerično aperturo, če med preparat in objektiv kanemo imerzijsko olje

Imerzijsko olje ima enak lomni količnik kot steklo(preprečuje žarkom da bi pri prehodu iz preparata iz leče objektiva zaradi loma in totalnega odboja zgrešili objektiv.

$$n_a = n \times \sin \theta$$
$$n(\text{olja}) = 1.5$$
$$n(\text{olja}) = 1$$

>**Kolektor** usmeri žarke v gorišče kondenzorja. Z zaslonko kolektorja reguliramo širino svetlobnega curka, ki naj ob enako širok, kot je odprtina čelne leče objektiva. Leče kolektorja in kondenzorja zagotavlja optimalno osvetlitev preparata ne glede na kakovost svetlobnega vira.

Kondenzor je sestavljen iz dveh ali treh leč, ki žarke iz svetlobnega vira zberejo in usmerijo v ravnino preparata. Oddaljenost kondenzorja od preparata spreminjamo z vijakom za premik kondenzorja. Idealna lega je tista, v kateri leče natančno preslikajo svetlobni vir v ravnino preparata in tako preparat najbolj osvetlijo. Pod kondenzorjem je zaslonka iz pahljačasto nameščenih kovinskih lističev, s katero uravnavamo širino snopa svetlobe, ki osvetljuje preparat. Z zapiranjem kondenzorjeve zaslonke tudi nekoliko povečamo kontrastnost slike.

Objektiv je sistem leč s kratko goriščno razdaljo. Naloga je zbiranje svetlobnih žarkov, ki izhajajo iz predmeta. **Slika je ostra, kadar je predmet v goriščni ravnini leč objektiva.**

Objektivi z večjo lastno povečavo imajo krajšo goriščno razdaljo in zato tudi krajšo delovno razdaljo med čelno lečo objektiva in pokrivalko, imajo pa večjo numerično aperturo. Objektivi, pri kateri želimo čim boljše ločljivost, so imerzijski in imajo večje numerične aperture. Označeni so z oznako HI, in s črnim obročem na spodnjem delu objektiva.

-kako bi dokazal sledeče spojine:

~glikogen

dokazovanje ogljikovih hidratov; PAS reakcija.

~nevtralni proteoglikani ;

dokazovanje ogljikovih hidratov; PAS reakcija

~znan segment RNA

In situ hibridizacija (ISH)

~citokeratin

In situ hibridizacija, ali pa imunocitokemija

Biološka membrana

Biološka membrana razmejuje celico od zunajceličnega prostora

- omejuje predelke v celici.
- Regulira prehajanje snovi v celico in iz nje,
- zagotavlja ohranjanje konstatnega notranjega okolja v celici
- omogoča komunikacijo celice z okoljem.

Sestava

-Ogrodje biološke membrane je fosfolipidni dvosloj, sestavljen iz štirih vrst asimetrično razporejenih fosfolipidov;

(fosfatidilholina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina in sfingomielina)

- Umetni model lipidnega dvosloja, ki je podoben lipidnemu sloju biološke membrane dobimo, če bipolarne molekule fosfolipidov dispergiramo v vodi. Molekule se uredijo v dvojne plasti, cilindre ali vezikle, v katerih so hidrofobni deli molekul obrnjeni drug proti drugemu, hidrofilni pa proti vodi.
- Vezikle, katerih dvojna lipidna plast obdaja vodo, v notranjosti, imenujemo liposomi.
- Ker imajo podobne lastnosti, kot biološka membrana, se lahko z njo zlijejo in so lahko uporabni za prenos nekaterih snovi v celico.
- Koncetrično urejanje večjega števila lipidnega dvosloja v večplastne cevke ali vezikle, to nastalo strukturo, imenujemo mielinska figura.
- V osnovnem lipidne dvosloju biološke membrane so mozaično in asimetrično razporejene proteinske molekule.
- **Ločimo integralne proteine**
- **Periferne proteine.**

Integralni proteini so lahko transmembranski, ali pa so vgrajeni v membrano le z lipidnim delom, na katerega je proteinski del vezan kovalentno.

Periferni proteini niso v hidrofobni notranjosti lipidnega dvosloja, temveč so povezani z integralnimi membranskimi proteini z ionskimi vezmi.

Po Singer-Nicholsonovem modelu tekočega mozaika je biološka membrana dinamično delno tekoča struktura iz mozaično in asimetrično razporejenih molekul lipidov in proteinov, ki se lahko gibljejo predvsem v lateralni smeri, medtem ko so premiki v vertikalni smeri iz ene plasti lipidov v drugo bolj omejeni.

Plazmalema

Citoplazma evkarionske celice je obdana s 6-10nm debelo plazmalemo (plazemsko membrano), preko katere celica komunicira z okolico in drugimi celicami.

Integralni proteini v plazmalemi tvorijo kanale, po katerih prehajajo nekatere molekule ali ioni. Imajo vlogo prenašalcev, receptorjev, encimov in določajo antigenske lastnosti celične površine.

Zunanja površina plazmalema živalskih celic je prekrita z glikokaliksom, plastjo bogato z ogljikovimi hidrati.

Glikokaliks vsebuje oligosaharidne verige, vezane na membranske proteine (glikoproteini) in lipide (glikolipidi), ter polisaharidne verige integralnih membranskih proteoglikanov.

Del glikokaliksa so še glikoproteini in proteoglikani, ki jih celice izločajo ; te pa se potem absorbirajo na celično površino.

Mnoge od teh absorbiranih molekul so tudi sestavine zunajceličnega matriksa.

Plazmalema rastlinske celice je na zunanji površini obdana s celično steno.

V zvezi specializiranimi funkcijami celice poznamo; različne diferenciacije plazmaleme, ki omogočijo absorpcijo, mehansko pritrditev in komunikacijo s sosednjimi celicami.

Plazmalema je vključena pri endocitozi in eksocitozi endomembranskega sistema.

Epitelne celice:

Ločimo apikalni del plazmaleme, ki ni v kontaktu s sosednjimi celicami in bazolateralni del plazmaleme. Oba dela plazmaleme so funkcionalno razlikujeta.

Celice ki so specializirane za absorpcijo, je površina njihove apikalne plazmaleme kjer poteka absorpcija, povečana z mikrovili. To so 0.1µm široki in 1µm dolgi izrastki na površini celice.

Osrednji del izpolnjuje elementi citoskeleta(aktin s pomožnimi proteini – vilinom in fimbrinom). Lateralne površine epitelnih celic so med seboj povezane z medceličnimi stiki. **Tesni stiki** so na meji med apikalno in lateralno površino. Na tem mestu se transmembranski proteini dveh sosednjih celic med seboj povežejo, popolnoma zatesnijo prostor med sosednjima celicama in preprečijo prehajanje makromolekul po zunajceličnem prostoru.

Tesni stiki preprečijo difuzijo molekul med apikalno in bazolateralno membrano, kar vzdržuje različnost teh dveh delov plazmaleme.

Adherentni stiki in dezmosomi omogočajo mehansko povezavo me celicami in s tem oblikovanje tkiva.

Povezava molekul medceličnih stikov na elemente citoskeleta daje večjo mehansko odpornost epitelu.

Predsledkovni stiki omogočajo neposredno komunikacijo med sosednjima celicami v tkivu. Sestavljajo jih proteinske molekule dveh sosednjih celic, ki oblikujejo kanal, po katerem lahko ioni in manjše molekule prehajajo iz celice v celico.

Transport skozi membrano

Vsa izmenjava molekul in ionov, med celico in okoljem, poteka skozi plazmalemo.

Plazmalema žive celice imajo dvojno funkcijo : po eni strani ovira prehajanje molekul in ionov iz celice v okolje, po drugi pa omogoča potrebno izmenjavo med celico in okoljem.

- Prehajanje molekul in ionov skozi celično membrano je odvisno od njihove velikosti, kemijskih lastnosti in tudi značilnosti membrane.

Procese, ki omogočajo prehajanje snovi skozi membrano, delimo v enostavno difuzijo, olajšano difuzijo (pasivni transport) in aktivni transport.

-**Difuzija** je spontan proces, pri katerem molekul in ioni prehajajo vedno v smeri koncentracijskega gradienta, to je od višje proti nižji koncentraciji, ter poteka do izenačitve koncentracij.

-faktorja, ki vplivata na hitrost difuzije snovi skozi membrano, sta topnost v lipidin in velikost molekul.

- manjša je molekula in čim bolj je topna v lipidih, hitreje bo difundirala skozi membrano.
- Zato lahko majhne nepolarne molekule kot sta npr O_2 in CO_2 , zlahka difundirajo skozi membrano.
- tudi nenabite, majhne polarne molekule, kot je npr voda, lahko z difuzijo prehajajo skozi membrano.

Olajšana difuzija (pasivni transport)

- je proces, ki omogoča različnim polarnim molekulam, kot so ioni, sladkorji, aminokisliline, nukleotidi in mnogi celični metaboliti, prečkati biološko membrano v smeri koncentracijskega gradienta.
- V tem primeru imajo ključno vlogo prenašalni proteini in proteini, ki tvorijo kanale v membrani.

Pri aktivnem transportu pa poteka prehajanje molekul in ionov v smeri proti koncentracijskem gradientu, pri tem se porablja energija ATP.

-biološko membrano lahko poenostavljeno označimo kot polprepustno (semipermeabilno), in procese pasivnega transporta, v celico in iz nje, razložimo kot osmotske pojave.

Osmoza

-**je prehajanje vode (topila) z mesta z višjo koncentracijo vode in nižjo koncentracijo topljenca** (hipertonična ali hipoosmotska raztopina) skozi polprepustno membrano **na mesto z nižjo koncentracijo vode in višjo koncentracijo** (hipertonična ali hiperosmotska raztopina). Ko **je koncentracija** vode na obeh straneh polprepustne membrane enaka, **sta raztopini izotonični** in ne zaznamo prehajanje vode v celico ali iz nje.

Hipertonični raztopini,

- se zaradi osmotskega prehajanja vode povečuje tlak na membrano (osmotski tlak). Pri konstantni temperaturi je osmotski tlak raztopine odvisen samo od števila delcev v raztopini (koligativna lastnost). Osmotski tlak v raztopini elektrolita (npr. NaCl) je torej večji kot v raztopini neelektrolita (npr. glukoze) z enako molarno koncentracijo, saj elektrolit disociira.

$$\Pi = cRT$$

$$\Pi = (cG) RT, \quad G; \text{ krioskopski koeficient (stopnja disociacije elektrolita)}$$

Citoplazma in zunajcelična tekočina sta raztopini, ki vsebujeta več različnih topljencev. Skupno efektivno število njihovih delcev, ki vpliva na osmotske lastnosti celice, označujemo kot osmolarnost.

Živalske celice so za osmotske pojave zelo občutljive. V zelo razredčenih raztopinah živalske celice nabreknejo in lahko pride do citolize, ker plazmalema počni in se vsebina celice izlije (npr. hemoliza eritrocitov). V koncentriranih raztopinah pa voda zaradi osmotskega tlaka izhaja iz celice, zato se skrčijo. Nespremenjene celice lahko opazujemo v izotoničnih raztopinah (fizioloških raztopinah)

- živalske celice **so običajno v izotoničnem okolju**
- rastlinske celice so hipertonične v primerjavi s tekočino(vodo), ki jih obdaja.
- **Trdnost celične stene preprečuje nabrekanje celic in dopušča velike osmotske razlike med notranjostjo celice in okoljem.** Plazmalema in celična stena se v hipertoničnem okolju **tesno prilegata**, tako da ju pod mikroskopom **ne moremo ločiti.**
- **Značilnost rastlinskih celic je vakuola**, ki vsebuje hipertonično celično raztopino in je tudi **omejena s polprepustno membrano (tonoplast)**
- Vsebina vakuole glede na citoplazmo je hipertonična, voda prehaja iz okolja skozi plazmalemo v citoplazmo in potem skozi tonoplast v vakuolo. **Taka celica je turgescentna**, ker je **njen tlak na celično steno velik predvsem zaradi povečanega volumna vakuole.**
- **Hipertonično okolje**(npr. raztopina NaCl) **rastlinska celica zaradi osmoze izgublja vodo, volumen vakuole se zmanjša in s tem tudi celični volumen.** Plazmalema odstopi od celične stene. Pojav imenujemo plazmoliza in je reverzibilen proces. Če damo plazolizirano celico v **hipotonično** okolje, pride do deplazmolize, celica postane spet turgescentna.

MEMBRANSKI ORGANELI IN VEZIKULARNI TRANSPORT

Endoplazmatski retikulum

Vse evkariontske celice imajo ER;

- zgrajen je iz razvejanih z membrano obdanih cevok (tubulov) in sploščenih cistern, ki se razprostirajo po vsem citosolu. Cevke in cisterne so med seboj povezane in oblikujejo enoten notranji prostor (lumen).
- Membrana ER ločuje notranji prostor cevok in mešičkov, to je lumen ER, od citosola.
- Lumen ER pogosto zavzema več kot 10% celotnega celičnega volumna.

Z morfološkega vidika ločimo dva predela ER:

- zrnati endoplazmatski retikulum (GER)
- gladki endoplazmatski retikulum (AER)

Zrnati ER ; (endoplazemski retikulum):

- ima ribosome na citosolni strani membrane.
- Zrnati ER je mesto v celici kjer poteka sinteza proteinov za endoplazemski retikulum in proteinov za golgijev aparat, lizosome in plazmalemo.
- V zrnatem ER se sintetizirajo tudi sekreციjski proteini, ki se z eksocitozo izločajo iz celic. Dobro je razvit predvsem v celicah, v katerih poteka intezivna sinteza proteinov (npr. žlezne celice), medtem ko je v embrionalnih, še nediferenciranih celicah manj razvit.

Predele na ER, ki na citosolni površini membrane nimajo ribosomov, imenujemo gladki endoplazemski retikulum. Pri veliki večini celic, je takih predelov malo. V nekaj specializiranih celicah pa je gladki endoplazemski retikulum dobro razvit. To so celice z izraziti metabolizmom lipidov (v testisih in ovarijih), nadalje celice, v katerih poteka sinteza lipidov in razstrupljanje (hepatociti).

GOLGIJEV APARAT

- Golgijev aparat (GA) je zgrajen iz ploščatih membranskih cistern in veziklov.
- Običajno leži v bližini jedra. Posebna značilnost GA je strukturna in funkcijska polarnost.
- sestavlja ga pet funkcionalno različnih predelov:
- cisgolgijevo mrežje, golgijeve skladovnica (razdeljena v cis, srednji in trans predel) ter transgolgijevo mrežje.
- proteini iz ER s pomočjo vezikularnega transporta vstopajo v GA na cis strani, se prenašajo skozi GA in izhajajo na trans strani.
- Posamezne predele GA lahko označimo:
- Cisgolgijevo mrežje in cis-cisterne s citokemijsko reakcijo – podaljšano osmiranje,
- srednje cisterne z reakcijo na markerski encim nikotinamid adenin dinukleotidfosfataza (NADP-azo), trans-cisterne s tiaminopirofosfatazo (TPP) in transgolgijevo mrežje s kislomofosfatazo (KF)
- V GA poteka spreminjanje oligosaharidnega dela glikoproteinov, sinteza proteoglikanov in glikolipidov ter razvrščanje končnih produktov v transportne vezikle.
- Od transgolgijevega mrežja se odcepljajo transportni vezikli, ki prenašajo te produkte bodisi v lizosome, sekrecijske vakuole ali v plazmalemo.

Sekrecija

- Sekrecijske vakuole potujejo proti površini celice, kjer poteka izločanje.
- lahko se dalj časa kopičijo v citoplazmi v obliki sekrecijskih vakuol in se izločijo šele pod vplivom specifičnega dražljaja – regulirana sekrecija, ali pa je sekrecija kontinuirana.

Glede na način, kako se sekrecijski produkti izločijo iz celice, ločimo :

a) **Merokrino izločanje:**

- sekret se izloči z eksocitozo; membrano sekrecijske vakuole se zlijejo s plazmalemo in sekrecijski produkti se sprostijo v zunajcelični prostor (nastopa pri večini celic)

b) **Apokrino izločanje:**

- skupaj s sekretom se odcepi še del citoplazme, vendar se celica po sekreciji obnovi (epitelij mlečne žleze)

c) **Holokrino izločanje :**

- sekret obdan z membrano sekrecijske vakuole, se izloči ob hkratnem propadu celice (žleze lojnice, strupne žleze v koži močerada)

LIZOSOMI

- so organeli, obdani z membrano in vsebujejo približno 50 hidrolitičnih encimov, ki lahko razgradijo vse biološke makromolekule: proteine, nukleinske kisline, ogljikove hidrate in lipide.
- Optimalna aktivnost lizosomskih encimov je v kislem območju pH (okoli 5).
- Lizosomi so prebavni sistem celice in razgrajujejo določene izrabljene ali poškodovane sestavine lastne celice, kot tudi material, ki pride v celico od zunaj.

- Oblika in velikost nista stalni, se spreminjata glede na izvor substrata.
- Pod elektronskim mikroskopom, jih lahko prepoznamo predvsem s pomočjo encimske histokemije ali imunohistokemije, npr, z določanjem markerskega encima kisle fosfataze.
- Sinteza lizosomskih encimov poteka na zrnatem ER.
- V transportnih veziklih se iz zrnatega ER prenesejo v GA, kjer se v cis predelu modificirajo in v trans- golgijevem mrežju vežejo na specifične receptorje.
- Ta povezava omogoča, da se v določenih veziklih zberejo samo lizosomski encimi.
- Ti vezikli nato brstijo iz trans-golgijevega mrežja. Substrat za razgradnjo v lizosome lahko pride iz zunanosti celice(endocitoza) ali po avtofagni poti iz same celice.

Endocitoza

- Glavna naloga lizosomov je prebavljanje materiala, ki ga celice dobijo iz okolja z endocitozo.
- Najbolj raziskana oblika tega procesa je receptorska endocitoza.
- Endocitotski vezikli, obdani s klatrinskim plaščem, brstijo iz plazmaleme na citosolni strani in se nato zlijejo z zgodnjimi endosomi.
- Deli membrane se vračajo na plazmalemo, medtem ko zgodnji endosomi postopno zorijo v pozne endosome.
- Po zlitju transportnih veziklov, ki brstijo iz transgolgijskega mrežja in vsebujejo hidrolitične encime s poznimi endosomi, nastanejo lizosomi in njihovi hidrolitični encimi razgradijo od zunaj prinešeni substrat
- Pri fagocitozi nastanejo fagosomi, ki vsebujejo večje delce, npr bakterije.
- po zlitju lizosomov, s fagosomi pride do razgradnje materiala v fagosomih.

Avtofagija

- Avtofagija je proces, v katerem celica razgrajuje iztrošene in nepotrebne sestavine lastne citoplazme.
- V tem procesu imajo osrednjo vlogo lizosomi, ki vsebujejo encim za razgradnjo večine celičnih komponent.
- V prvi stopnji avtofagije se del citoplazme ovije z membrano (sekvestracija)
- nastane avtofagosom, ki vsebuje citosol in organele.
- Avtofagosomi se lahko združujejo med seboj, in z vakuolami, ki prinašajo endocitiran material (endosomi).
- nastanejo velike vakuole z zelo raznoliko vsebino.
- Razgradnja vsebine avtofagosoma se prične šele po zlitju z lizosomom.
- Ta prinaša namreč hidrolitične encime in protonske črpalke, ki znižajo pH v notranjosti vakuole. Razgradni produkt difundira skozi membrano v citosol, lizosomski encimi pa se uporabijo pri zlitju z novim avtofagosomom.

PEROKSISOMI

- so majhni, z membrano obdani organeli, specifični za rastlinske in živalske celice.
- Vsebujejo več kot 50 različnih encimov, ki sodelujejo pri številnih metabolnih reakcijah.
- Reakcije vključujejo: oksidacijo maščobnih kislin, sintezo holesterola in žolčnih kislin.
- Pri teh reakcijah nastaja vodikov peroksid..
- Katalaza, ki je v večini peroksisomov prisotna v velikih koncentracijah, razgrajuje vodikov peroksid. Zato ta organel imenujemo peroksisom.
- Na osnovi morfologije peroksisome na elektronskomikroskopskih preparatih težko vidimo. Za njihovo določitev si pomagamo z encimsko ali imunocitokemično določitvijo markerskega encima katalaze.
- Sinteza peroksisomskih proteinov poteka v citosolu. V peroksisome nato vstopajo postranslacijsko.
- Rastlinske celice vsebujejo posebno vrsto peroksisomov, to so glioksisomi, ki sodelujejo pri metabolizmu maščob.

MITOHONDRIJI

- so celični organeli, ki jih lahko vidimo tudi pod svetlobnim mikroskopom.
- nahajajo se v vseh živalski in rastlinskih celicah, celo v brezjedrnih eritrocitih.
- Tipična oblika mitohondrijev je valjasta in merijo po dolžini od 1 do 4 μ m ter od 0.2 do 1,0 μ m v premeru.
- V celicah zgodnjih embrijev so mitohondriji skoraj kroglaste oblike, medtem ko imajo npr. v celicah fibroblastov nitasto strukturo.
- Glede na njihovo osrednjo pri biološki oksidaciji je število mitohondrijev v različnih celicah različno, odvisno je od aktivnosti celice in s tem od porabe energije.
- Povprečna jetrna celica sesalcev vsebuje približno 1500 mitohondrijev
- Obdani so z zunanjo in notranjo membrano zelo različnih lastnosti.
- Membrani sta med seboj ločeni z medmembranskim prostorom.
- Notranja membrana tvori številne grebene (kriste), ki segajo v notranjost(matriks) organela.
- Proteinski kompleksi v notranji membrani so vključeni v transport elektronov in oksidativno fosforilacijo.
- V primerjavi z notranjo membrano, ki je neprepustna za večino ionov in majhnih molekul, je zunanja membrana zaradi specifičnih proteinov – porinov prepustna za vse majhne molekule.
- V mitohondrijskem matriksu so poleg lastne mitohondrijske DNA (mt DNA), ki kodira rRNA in mRNA za nekatere proteine, še encimi krebsovega ciklusa.
- Večino mitohondrijskih proteinov kodira jedrna DNA in prehajajo v mitohondrije postranslacijsko
- V mitohondrijskem matriksu poteka krebsov ciklus, na notranji membrani pa transport elektronov z encimi dihalne verige ter oksidacijo fosforiliranje, v katerem nastaja ATP
- Energijo za potek oksidativne fosforilacije daje koncentracijski gradient protonov (H⁺) med matriksom mitohondrija in medmembranskim prostorom.
- V procesu dihalne verige se protoni črpajo iz matriksa v medmembranski prostor, povratek protonov v mitohondrijski matriks, skozi proteinski kompleks sinteze ATP, pa poganja sintezo ATP iz ADP in Pi.

CELIČNO JEDRO

- V evkarionski celici se dedni material (v obliki molekul DNA) nahaja v celičnem jedru in je tako ločen od citoplazme.
- Povprečno jedro človeških celic ima premer 10 μ m in zavzema približno 10% celotnega volumna celice. **V jedru potekata podvajanje (duplikacija) DNA in prepis (transkripcija) RNA z DNA**
- Večina celic ima samo eno jedro. Nekatere celice, kakršne so na primer velike celice prečnoprogastih mišic, pa imajo lahko več jeder. Izjema so tudi evkariontske celice, ki jedra nimajo. Primer celi brez jedra so eritrociti sesalcev.
- V zarodni celici eritrocita (eritroblastu) je jedro sicer še prisotno, vendar izgine (celica ga izloči), ko eritrocit dozori in začne opravljati svojo specializirano nalogo.
- Oblika jeder in njihov položaj v celici so odvisni od tipa celice, njene aktivnosti in stopnje diferenciacije. V okroglih, kubičnih in izodiametričnih celicah je jedro pogosto okrogle oblike, v visokoprizmatskih celicah je ovalno, v nekaterih specializiranih celicah, kot so na primer bela krvna telesca(levkociti), pa je lahko zelo nepravilnih oblik.
- **Levkocite delimo :**
- **Agranulocite**, kamor sodijo limfociti in monociti
- **Granulocite**, kamor sodijo nevtrofilni granulociti, eozinofilni granulociti in bazofilni granulociti.
- **Limfociti** (celice z osrednjo vlogo pri imunskem odzivu) imajo okrogla jedra, okrog katerih je le ozek pas citoplazme.
- **Jedra monocitov**(so največji med levkociti in se razvijejo v različne fagocite, na primer v tkivne makrofage) imajo na eni strani globoko ureznitev, kar jim daje podkvast oziroma ledvičast videz.
- **Nevtrofilni granulociti**(najštevilčnejši med levkociti) imajo jedra segmentirana na tri do štiri segmente, ki so med seboj povezani s tankimi jedrnimi mostički.
- **Bazofilni granulociti**(predstavljajo manj kot 1% vseh levkocitov) imajo jedra segmentirana iz več segmentov, vendar so ti pod svetlobnim mikroskopom pogosto slabo vidni.
- Jedra eozinofilnih granulocitov so iz dveh velikih povezanih segmentov.
- V embrionalnih celicah leži jedro na sredini celice, v odraslih diferenciranih celicah pa ga različni celični vključki pogosto potisnejo proti periferiji (npr. jedro v žleznih celicah leži bazalno, jedra prečnoprogastih mišic ležijo neposredno pod plazmalemo)

- Obliko jedra določa jedrna ovojnica, ki ga obdaja, in tako predstavlja mejo med jedrom in citoplazmo
- Jedrno ovojnico gradijo dve koncentrični membrani (notranja in zunanja jedrna membrana), prostor med njima (perinuklearni prostor) in jedrne pore.
- Notranja in zunanja membrana preprečujeta prehajanje ionov in molekul med jedrom in citoplazmo. Na zunanjo jedrno membrano so pritrjeni ribosomi in na nekaterih mestih se zunanja jedrna membrana nadaljuje v zrnati ER.
- Pod notranjo jedrno membrano leži jedrna lamina, ki daje oporo jedrni ovojnici in je sestavljena iz intermediarnih filamentov – laminov.
- Kjer se zunanja in notranja jedrna membrana združita, nastanejo jedrne pore.
- Jedrne pore gradijo kompleksi proteinov, ki omogočajo prehajanje ionov, molekul RNA in proteinov, tako iz jedra v citoplazmo, kot tudi iz citoplazme v jedro.
- Povprečno ima eno jedro okoli 3000 jedrnih por.

- V jedru se nahaja kromatin in eno ali več jedrc.

Kromatin sestavljajo molekule DNA in nanje vezani proteini. Proteini so potrebni pri pakiranju dolgih linearnih molekul DNA v jedro (če bi nanizali vseh 6 milijard baznih parov, kolikor jih vsebuje povprečna človeška celica, bi bila takšna molekula DNA dolga 2m – zato so molekule DNA s pomočjo proteinov pakirane tako, da se lahko uredijo znotraj jeder). Kromatin je na različnih mestih različno gosto pakiran. Kromatin, ki je bolj zgoščen, se imenuje heterokromatin, manj zgoščen kromatin pa se imenuje evkromatin. Heterokromatin vidimo predvsem na periferiji jedra, pod jedrno ovojnico. Jedrca (oz. nukleoli) so strukture, običajno vidne z svetlobnim in elektronskim mikroskopom kot temnejša območja znotraj jeder, kjer poteka prepisovanje ribosomske RNA (rRNA) iz DNA, in kjer nastajajo ribosomi. V jedru lahko vidimo več jedrc.

CITOSKELET

- Citoskelet sestavlja proteinsko ogrodje celice, ko sodeluje pri vzpostavitvi oblike celice in omogoča njeno gibanje.
- V primerjavi s telesnim skeletom je citoskelet mnogo bolj dinamičen, tako da ga lahko primerjamo tudi z mišičjem.
- Sestavljajo ga trije tipi filamentov
- mikrotubuli – 25nm
- intermediarni filamenti – 10nm
- aktinski filamenti (mikrofilamenti) – 6nm

Mikrotubuli:

- so splošno razširjeni v evkarionskih celicah. Mikrotubuli, ki ležijo prosto v citoplazmi, so sestavina citoskeleta, lahko pa sestavljajo tudi specifične strukture.
- Te so lahko le prehodnega značaja, npr. delitveno vreteno, ali pa so stalne strukture, npr. bički, migetalke, centriol in bazalno telo.
- Sodelujejo pri znotrajceličnem transportu, pri natančni razporeditvi kromosomov med hčerinski celici, pri gibanju, pa tudi pri vzdrževanju oblike celic in njihove polarnosti.
- Zunanji premer mikrotubula je 25nm, dolgi pa so nekaj μm . Sestavljeni so iz α in β -tubulina, ki se združita v dimer. S polimerizacijo dimerov se organizira cevčica, sestavljena iz 13 nizov tubulinskih dimerov – protofilamentov.
-
- Mikrotubuli so zelo dinamična struktura, katere dolžina se nenehno spreminja. Ločimo pozitivni konec mikrotubula, kjer se dimeri tubulina dodajajo in mikrotubul raste, ter negativni konec, kjer se dimeri tubulina odcepljajo, mikrotubul pa se krajša. Na stabilnost mikrotubulov pomembno vplivajo proteini MAP (microtubular associated proteins)
- Centriol in bazalno telesce sta morfološko enaki strukturi, ki sta sestavljeni iz 9 tripletov mikrotubulov, združenih v cilinder.
- Tripleti mikrotubulov so orientirani poševno proti centru centriola oziroma bazalnega telesca.
- Mikrotubule v tripletu označujemo s črkami A, B in C od centra proti periferiji.
-
- Bazalno telo leži vedno na bazi bička oziroma cilije, centriol pa je v notranjosti celice v območju centrosoma, kjer je organizacijski center za tvorbo mikrotubulov v celici.

- Večina živalskih ima v interfazi dva centriola, ki ležita pravokotno drug na drugega. V S- fazi interfaze nastane ob vsakem centriolu v paru še en nov centriol in vsak tako nastali par centriolov se na začetku mitoze pomakne na svoj pol celice.
- Okrog vsakega para centriolov se izoblikuje žarkasto nitje, ki poteka proti plazmalemi (aster), med paroma centriolov pa se izoblikuje delitveno vreteno.
- Bički oziroma migetalke (cilije) so zelo pogosta diferenciacija, ki omogoča gibanje živalskih in tudi nekaterih rastlinskih celic.
- To so izrastki iz celične površine, ki so obdani s plazmalemo. V osrednjem delu bička je aksonema, to je mikrotubularna struktura iz 9 parov mikrotubulov, ki so razvrščeni v krogu (periferni mikrotubuli), v sredini bička pa je še en par mikrotubulov.
- Na bazi bička je bazalno telesce, ki se povezuje z elementi citoskeleta.
- Periferni pari mikrotubulov v aksonemi se nadaljujejo iz mikrotubulov A in B bazalnega telesca in jih tudi v bičku označimo kot mikrotubula A in B.
- Na mikrotubulu A do dineinske ročice. Dinein ima ATP-azno funkcijo in omogoča gibanje. Gibanje temelji na medsebojnem vzdolžnem drsenju parov mikrotubulov v aksonemi
- Mikrotubul A iz enega para mikrotubulov se preko dineinskih ročic poveže z mikrotubulom B sosednjega para.
- V prisotnosti ATP se ta povezava prekine. Ob sprostitvi energije pri hidrolizi ATP, ki jo omogoča dinein kot ATP-za, se ročica konformacijsko spremeni in se poveže z mikrotubulom B na drugem mestu in pod drugačnim kotom.
- S tem se para mikrotubulov medsebojno premakneta.

INTERMEDIARNI FILAMENTI

- Oblikujejo elastično mrežo v celici.
- Med citoskeletnimi filamenti so intermediarni najbolj stabilni. Celice dajejo mehansko trdnost in obstojnost. Delujejo kot blažilec mehanskih pritiskov.
- V epitelnih celicah se intermediarni filamenti pritrjujejo kot dezmosome, kar omogoča stabilno povezavo med celicami
- Za razliko od mikrotubulov in mikrofilamentov so intermediarni filamenti tkivno specifični (določena vrsta se nahaja le v določenih tkivih)

Intermediarni filamenti so kemijsko zelo raznolika skupina.

Delimo jih v šest tipov:

- tip I (kisli)
- tip II (bazični ali nevtralni) :
- keratinski filamenti – epiteliji ;
- tip III (vimetinski filamenti):
- vimentin –mezenhimske celice v razvoju,
- fibroblasti
- desmin- mišične celice,
- kisli gliaproteini
- tip IV ; nevrofilamenti (NF-L, NF-M, NF-H) – v nevronih
- tip V ; jedrni lamini (A,B,C)- v jedru;
- tip VI ; nestin-embriionalne matične celice centralnega živčnega sistema.

Poznamo 20 različnih citokeratinov (keratini v epiteljskih celicah). Njihovo izražanje je odvisno od vrste epitelija, od lege celic v epiteliju in od diferenciacije epiteljskih celic. V enostavnih epitelijih (npr. črevo) se pojavljajo citokeratini 7, 8, 18-20 v večskladnih epitelijih (npr koža, sluznica grla) citokeratini 1-6, 9-17 in v večvrstnih oziroma prehodnih epitelijih citokeratini 4,7,8, 13, 17,18-20. Določanje prisotnosti citokeratinov se veliko uporabljajo v patološki diagnozi, saj lahko pojasni izvor tumorskih celic in stopnjo diferenciacije tumorjev.

AKTINSKI FILAMENTI

- Aktinski ali mikrofilamenti so najtanjši med citoskeletnimi filamentami.
- Sestavljeni so iz globularnih aktinskih molekul (G –aktin). Te molekule se lahko povezujejo v filamente v obliki dveh vijačno urejenih nizov aktinskih molekul (F-aktin)
- Podobno kot mikrotubuli so tudi aktinski filamenti polarne strukture ki se na pozitivnem koncu hitreje izgrajujejo, na negativnem koncu pa hitreje razgrajujejo.
- Razporejeni so predvsem po obodu celice in tvorijo nekakšen plašč ali korteks, ki daje celici obliko.
- Čeprav imajo vsi aktinski filamenti enako zgradbo, opravljajo zelo raznolike naloge v celici. Omogočajo iztezanje delov celice v določeno smer in krčenje celice, kot na primer v mišični celici ali pri delitvi celice.
- Od gostote mreže aktinskih filamentov je odvisna viskoznost citoplazme, kar določa smer gibanja citoplazme.
- Plast aktinskega mrežja daje tudi oporo plazmalemi. Te številne naloge in organizacijske oblike aktinskih filamentov so odvisne od dodatnih proteinov, ki se nanje vežejo (miozin, tropomiozin, alfaaktinin, gelsolin)

MEDCELIČNINA

- Tkiva niso sestavljena samo iz celic.
- Pomemben del zunajceličnega prostora zapolnjuje zunajcelični(ekstracelularni) matriks, sestavljen iz prepleta raznovrstnih molekul.
- Zunajcelični matriks je najboljšežnji v vezivnem tkivu, najmanj pa ga je v epitelnem tkivu.
- Glede na zastopanost različnih molekul in njihov način organiziranja v zunajceličnem matriksu ločimo v organizmu različne oblike zunajceličnega matriksa, ki so funkcionalno prilagojene zahtevam posameznih tkiv.
- Tako je zunajcelični matriks v različnih tipih vezivnega tkiva zelo raznolik (npr. kost, zob, hrustanec, roženica, tetive mišic).
- Tvori pa lahko tudi specializirane strukture, kot npr. bazalna lamina, ki ločuje tkiva od obdajajočega vezivnega tkiva.
- Makromolekule zunajceličnega matriksa delimo v dve skupini, v proteoglikane in v fibrilarne proteine.
- Ti so lahko strukturni proteini (večina kolagenov, elastin) ali pa sodelujejo pri pritrditvi celic (fibronektin, kolagen IV, laminin)

PROTEOGLIKANI

- Osnovo molekule proteoglikana predstavlja glikoprotein, na katerega so kovalentno vezani glikozaminoglikani (GAG), kot sta npr. hondroitinsulfat in keratansulfat.
- Vsak glikozaminoglikan je dolga, nerazvejana polisaharidna veriga, sestavljena iz ponavljajočih se disaharidnih enot.
- V molekuli proteoglikana je lahko vezan en sam glikozaminoglikan, lahko pa jih je tudi nekaj sto, kot na primer v agrekanu, ki je glavna komponenta hrustančnega matriksa.
- Proteoglikani se v zunajceličnem matriksu ponavadi združujejo v velike komplekse oziroma agregate (molekulska masa okoli 3 milijone daltonov)
- Ogradje kompleksa predstavlja hialuronska kislina oziroma hialuronan (nesulfatiran GAG), na katerega so preko glikoproteinov nekovalentno vezani posamezni proteoglikani.
- Proteoglikani imajo predvsem strukturno funkcijo.
- Negativni naboji sulfatnih in karboksilnih skupin na glikozaminoglikanih privlačijo katione, kar povzroči vezavo razmeroma velikih količin vode v tkivu.
- Proteoglikani tako tvorijo porozne, hidratizirane gele, ki so zaradi nestisljivosti vode odporni proti pritiskom in omogočajo veliko mehansko odpornost zunajceličnega matriksa.
- Proteoglikani so pomembni tudi zato, ker se nanje vežejo številne obveščevalne molekule, rastni faktorji in encimi ter tako vplivajo tudi na delovanje celic v tkivu.

FIBRILARNI PROTEINI

Kolagenska vlakna

- Po količini je kolagen najbolj zastopan protein v telesu sesalcev in je prisoten samo v zunajceličnem prostoru.
- Spada v skupino fibrilarnih glikoproteinov, v kateri je znanih 19 različnih tipov kolagena.
- Med njimi je najbolj pogost tip I, ki se nahaja v kolagenskih vlaknih.
- Kolagen I se sintetizira predvsem v fibroblastih.
- V granularem ER se po tri verige pro- α povežejo v trojno vijačnico prokolagena, ki se z eksocitozo izloči iz celice.
- V zunajceličnem prostoru se od prokolagena odcepi propeptid, ki je preprečeval prezgodnje povezovanje molekul v fibrile.
- Z združevanjem molekul kolagena nastanejo v zunajceličnem prostoru nekaj μ m debela kolagenska vlakna, ki so zelo odporna proti natezni sili.
- Veliko jih je v tetivah mišic, kosteh in koži, nahajajo pa se tudi v stenah vseh telesnih organov.
- Lastnosti posameznih tkiv so v tesni povezavi s prostorsko organizacijo molekul kolagena.
- Tako so npr. v tetivah, ki pritrjujejo mišice na kosti in ki morajo prenesti izredno velike natezne sile, kolagenska vlakna vzporedna z osjo tetive in torej vzporedna z delovanjem sile.
- V roženici, ki predstavlja zunanjo zaščitno plast očesnega zrkla in ki mora biti hkrati tudi prozorna, da prepušča svetlobo v notranjost očesa, pa so kolagenska vlakna kratka in organizirana v plasti (podobno kot skladovnica drv).

- Odpornost kolagenskih vlaken proti natezni sili je odvisna tudi od količine veznih molekul v kolagenskih fibrilah, pa tudi od organizacije kolagenov tipa IX in XII, ki povezujeta fibrile med seboj

Elastična vlakna

- Nekatera tkiva, kot so npr. koža, pljuča in krvne žile, morajo imeti precejšno sposobnost raztezanja in krčenja (elastičnost).
- To lastnost jim dajejo elastična vlakna, katerih glavna komponenta je elastin.
- Po svoji primarni zgradbi je elastin podoben kolagenu, vendar pa drugačna sekundarna in terciarna struktura elastina narekujeta tudi drugačno funkcijo.
- Elastična vlakna so sestavljena iz številnih med seboj povezanih molekul elastina, ki se lahko zvijajo in raztezajo.
- Taka molekularna zgradba pogojuje prožnost elastičnih vlaken in posledično tudi celotnega tkiva.

Fibronektin

- Fibronektin je velik glikoprotein, sestavljen iz dveh podenot, med seboj povezanih z disulfidno vezjo.
- Je eden od najbolj raziskanih proteinov zunajceličnega matriksa in vsebuje številna vezavna mesta za različne molekule.
- Tako se nekateri deli molekule fibronektina povezujejo s kolagenom in proteoglikani, kar omogoča, da so molekule zunajceličnega matriksa med seboj povezane v stabilno mrežo.
- Drugi deli molekule fibronektina pa se povezujejo z receptorji na površini različnih tipov celic.
- S tem fibronektin celicam omogoča pritrnitev oziroma tesno povezavo z zunajceličnim matriksom, hkrati pa uravnava in usmerja gibanje celic, kar je pomembno predvsem v embrionalnem obdobju.

Bazalna lamina

- Bazalna lamina je tanka mrežna struktura (debeline 50 – 200 nm), s katero so celice epitelov, mišičnega, živčnega ali maščobnega tkiva ločene od vezivnega tkiva, ki jih obdaja.
- Večina molekul bazalne lamine se sintetizira v celicah, ki ležijo na bazalni lamini.
- Njena osnovna proteinska mreža je sestavljena iz prepleta molekul kolagena IV in laminina.
- Bazalna lamina opravlja številne funkcije ; preprečuje kontakt med hitro delečimi se fibroblasti in epitelnimi celicami, omogoča prehod makrofagov, limfocitov in živčnih končičev, daje oporo poškodovanemu tkivu in omogoča regeneracijo tkiva.
- Obdaja tudi porozno steno oziroma endotelij krvnih kapilar in preprečuje prehajanje proteinov iz krvi v okolišnje tkivo.
- To je še zlasti pomembno v ledvicah, kjer se kri v ledvičnem glomerulu filtrira skozi dvojno odebeljeno bazalno lamino, ki deluje kot makromolekularni filter.

CELIČNI CIKEL

- Število celic se lahko povečuje samo z delitvami že obstoječih celic.
- Iz ene celice nastaneta dve v zaporedju dogodkov, ko celica raste in se razdeli na dve celici
- Ti dogodki se ponavljajo iz generacije v generacijo celi, zato govorimo o celičnem ciklu.
- Pred predelitvijo celice poteče podvajanje genetskega materiala in njegovo pravilno razporejanje v novo nastali (hčerinski) celici.
- Celični cikel obsega obdobje interfaze, ko se celica ne deli, in obdobje delitve(faza M)
- Dolžina cikla je pri različnih celicah različna, odvisna pa je predvsem od dolžine interfaze, medtem ko je trajanje faze M razmeroma konstantno.
- Med delitvijo celice potekate delitev jedra (mitoza) in razdelitev citoplazme (citokineza)
- Delitve celice so potrebne za razmnoževanje, ko gre za enocelične organizme, za rast večceličnega organizma in za nadomeščanje propadlih celic.
- Med interfazo je jedro morfološko izoblikovano, obdano z jedrno ovojnico, kromatin je despiraliziran, v jedru so prisotna jedrca. Govorimo o interfaznem jedru.
- Med delitvijo celice se dedni material, ki je bil v interfazi despiraliziran, kondenzira v kromosome (izraz kromosom pomeni obarvano telesce in izhaja iz opazovanj z svetlobnim mikroskopom), ki se pravilno porazdelijo med obe novi celici.
- Jedrna ovojnica se na začetku mitoze razgradi in se znova oblikuje ob koncu mitoze. Kmalu po začetku mitoze se razgradijo tudi jedrca, ki pa spet nastanejo ob koncu mitoze.
- V interfazi ko so kromosomi despiralizirani, je biosintetska aktivnost celice velika.
- Biomasa celice se med interfazo povečuje, v določenem delu interfaze pa se podvoji tudi dedni material.Podvojitvev dednega materiala je mejnik, ki interfazo razmejuje na tri obdobja ; faze G_1 , S in G_2 .
- Faza G_1 je obdobje, od konca mitoze do začetka podvajanja DNA in je v celičnem ciklu po dolžini najbolj variabilno obdobje.
- V fazi S poteka podvajanje kromatina (DNA in proteinov), nastaneta sestrski kromatidi, ki sta povsem identični. V citoplazmi se podvoji tudi centriol par. Faza G_2 je obdobje od končane podvojitve kromatina do začetka mitoze.

KROMOSOMI

- Med celičnim ciklom je kromatin različno kondenziran.
- V fazi S iz vsake molekule DNA v procesu podvajanja nastaneta dve identični molekuli DNA, ki pa ostaneta med seboj povezani v centromerni regiji.
- Podvojijo se tudi proteini, ki z DNA sestavljajo kromatin. Ko se kromatin med mitozo bolj kondenzira, se izoblikuje kromosomi.
- Takrat lahko tudi s svetlobnim mikroskopom opazujemo zgradbo in obliko kromosomov.
- Vsak kromosom je (od profaze do metafaze mitoze) sestavljen iz dveh kromatid (v vsaki kromatidi je ena molekula DNA in vezani proteini), ki sta povezani na mestu centromere (primarna zožitev) in se imenujeta sestrski kromatidi.

- Na centromeri se nahajajo specifični proteini (kompleks proteinov, imenovan kinetohor), na katere se pritrdijo mikrotubuli delitvenega vretena (kinetohorni mikrotubuli), kar kasneje omogoča razdelitev kromosomov.
- Centromera razdeli vsako kromatido na dva kraka, ki ju imenujemo krak p in krak q. Krak p je vedno krajši (petit), krak q pa je daljši. Konce krakov imenujemo telomere. Glede dolžine obeh krakov ločimo naslednje oblike kromosomov:

1. metacentrični kromosom ima oba kraka približno enako dolga
2. submetacentrični kromosom ima en krak daljši od drugega.
3. akrocentrični kromosom, ima v primerjavi z drugim, en krak zelo kratek.

- V določenih razvojnih fazah se v nekaterih tipih celic, v katerih poteka intenzivno prepisovanje RNA z DNA, pojavi specializirana oblika kromosomov - orjaški kromosomi.
- Pri teh celicah se ustrezno povečata tudi volumen jedra in volumen citoplazme.
- Zaradi svoje velikosti in značilne strukture so primeren model za raziskave aktivacije genov.

CELIČNA DELITEV

- Mitoza je način delitve jedra, ki zagotavlja ohranjanje nespremenjene kromosomske garniture v hčerinskih celicah.
- Med mitozo se jedro popolnoma reorganizira, iz kromatina se izoblikujejo kromosomi, v citoplazmi pa se izoblikuje delitveno vreteno (astralni, kinetohorni in polarni mikrotubuli), ki razdeli vsak kromosom, sestavljen iz dveh kromatid, na dva hčerinska kromosoma, sestavljena iz ene kromatide.
- V procesu citokineze, ki se začne že v zaključnih fazah mitoze, se razdeli na polovico tudi citoplazma in tako nastaneta dve novi ločeni celici.
- Mitoza ima naslednje podfaze:
 - profazo
 - prometafazo,
 - metafazo
 - anafazo
 - telofazo
- Začetek profaze prepoznamo po tem, da postanejo kromosomi v svetlobnem mikroskopu vidni kot tanke nitke.
- Vsak profazni kromosom je iz dveh kromatid, viden pa postane tudi primarni začetek (centromera), na katerem sta obe kromatidi združeni do metafaze.
- Ne mestu centromere se na vsaki kromatidi nahaja proteinska struktura, imenovan kinetohor. V citoplazmi se začne izoblikovati delitveno vreteno: para centriolov, vsak s svojim astrom, se pomikata na pola celice in med njima potekajo mikrotubuli delitvenega vretena
- **Prometafaza:**
 - je značilna nadaljnja kondenzacija kromosomov, razgradijo se jedrna ovojnica in jedrca.
 - Na kinetohorje se začenjajo pripenjati niti delitvenega vretena (kinetohorni mikrotubuli), ki kromosome postopno potiskajo v ekvatorialno ravnino celice.

- V celicah višjih rastlin ni astralnih mikrotubulob in cetriolov (anastralna mitoza)

Metafaza:

- so kromosomi maksimalno kondenzirani.
- Sestavljeni so iz dveh sestrskih kromatid, povezano so s kinetohornimi mikrotubuli in razporejeni v ekvatorialno ravnini celice.
- Na koncu metafaze se ločijo povezave med kromatidama v centromerni regiji vsakega kromosoma.

Anafaza:

- se sestrski kromatidi kromosoma ločita in začeta potovati proti nasprotnima poloma celice.
- Potovanje kromatid proti poloma celice omogoča delitveno vreteno.
- Ker od trenutka ločitve sestrskih kromatid vsaka kromatida nosi popolno dedno informacijo in je vidna kot samostojna zaključena celota, takšno kromatido sedaj imenujemo kromosom.
- Od anafaze so torej kromosomi zgrajeni iz ene kromatide, medtem ko so bili do metafaze zgrajeni iz dveh kromatid.
- V anafazi je zato videti dvakrat več kromosomov kot v metafazi.

Telofaza:

- je potovanje kromatida (hčerinskih kromosomov) proti poloma končano, kromosomi se dekondenzirajo, oblikuje se jedrna ovojnica in nastanejo tudi jedrca. Citokineza(delitev citoplazme) se v večini primerov začne že na koncu anafaze. Pri živalskih celicah se v ekvatorialni ravnini oblikuje pas aktinskih filamentov, ki začne citoplazmo zažemati in celico razdeli na dve polovici. Pri rastlinskih celicah pa se v ekvatorialni ravnini začnejo zbirati membranski vezikli, ki izvirajo iz golgijevega aparata.
- s postopnim združevanjem teh veziklov nastaja celična plošča, ki raste od sredine celice proti robu.
- Ko doseže plazmalemo, razdeli celice na dve hčerinski celici.

ODMIRANJE CELIC

- število celic v tkivu je odvisno od razmerje med celičnimi delitvami in odmiranjem celic.
- Z mitotskimi delitvami se nadomeščajo celice, ki odmrle zaradi fizioloških dejavnikov, pa tudi celice, ki propadejo zaradi poškodb povzročenih z nefiziološkimi dejavniki.
- Ločimo dva načina odmiranja celic:
 - nekrozo
 - apoptoza
- Nekrozo lahko imenujemo tudi pataloška celična smrt. Nastopi ob ekstremnih spremembah razmer v okolju, npr. ob hipoksi, hipertermiji, spremembi pH, ali zaradi mehanskih poškodb.

- Med nekrozo se pojavijo poškodbe plazmaleme, ki vodijo do vdiranja vode in ionov v celice. Celični organeli, predvsem mitohondriji in celotna celica nabreknejo, kar povzroči lizo celice. Vsebina celice z encimi se sprosti v zunajcelični prostor, to pa privede do poškodbe sosednjih celic in do vnetnega odgovora.

APOPTOZA

- Apoptoza je celična smrt, ki nastopi v fizioloških okoliščinah. To je aktiven genetsko voden proces.
- Lahko ga razumemo tudi kot samomor celice. Pojavlja se pri oblikovanju tkiv, med embrionalnem razvojem in pri vzdrževanju stalnega števila celic v diferenciranem tkivu.
- Apoptozo lahko povzročijo najrazličnejši dejavniki :
- Pomanjkanje ali prevelika količina rastnih faktorjev, virusne infekcije, ali napake v regulaciji celičnega ciklusa.

Proces Apoptoze delimo na tri faze:

- Indukcijsko fazo, v kateri različni signali usmerijo celico na pot apoptoze
- Kontrolno fazo, v kateri se v celici odloči nadaljna usoda celice – celica preživi ali odmre.
- Fazo razgradnje, ki je ireverzibilna in jo spoznamo po značilnih biokemijskih in morfoloških spremembah, kot so agregacija kromatina, kondenzacija citoplazme in razpad celice na apoptotska telesa.
- značilnost tretje faze apoptoze je predvsem cepljenje DNA.
- Z endonukleozami, kar v končni fazi povzroči odmrte celice, še preden se pokažejo morfološke spremembe v citoplazmi.
- Apoptotska telesa, ki so po smrti celice ostala v tkivu, odstranjujejo makrofagi in sosednje celice. Nekatere apoptotska telesa pa se izrinejo iz epitela in odlučijo v lumen organa.
- Apoptotska način odstranjevanja celic iz tkiva, ne povzroči vnetnih procesov.

Pojavljanje apoptoze lahko ugotavljamo z svetlobno in elektronsko mikroskopijo po morfoloških značilnostih apoptotskih celic ali z metodami In Situ za ugotavljanje fragmentirane DNA.

Morfološke značilnosti apoptotskih celic na svetlobnomikroskopskem nivoju so gosti drobcji kromatina, ki se intenzivno obarvajo s hematoksilinom, in svetel pas okrog apoptotske celice, ki nastane zaradi prekinitve stikov z sosednjimi celicami.

S presevnim elektronskim mikroskopom so opazne ultrastrukturne spremembe apoptotskih celic. Najzgodnješa morfološka prepoznavna sprememba je zgostitev in razporeditev jedrnega kromatina na periferijo jedra. Kromatin se oblikuje v ostro ločeno drobno zrnato maso, ki se zbira ob robu jedrne ovojnice. Istočasno se začne zgoščevati citoplazma, medtem ko ostane struktura mitohondrijev ohranjena. Napredovanje procesa apoptoze spremlja gubanje celice. Sledi razpad celice v apoptotska telesa. Številna apoptotska telesa vsebujejo po več jedrnih delcev.